sebia

HYDRAGEL 1 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4801

HYDRAGEL 2 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4802

HYDRAGEL 4 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4804

Ref. 4881*

HYDRAGEL 4 IF *Amidoschwarz / Amidoblack*

Ref. 4808

HYDRAGEL 9 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4809

Ref. 4882**

Masque standard / Standard mask

IVD

CE

2010/01

UTILISATION

Les kits HYDRAGEL 1 IF, 2 IF, 4 IF et 9 IF permettent la détection des protéines monoclonales dans le sérum humain et dans l'urine, par immunofixation sur gel d'agarose dans le système semi-automatique HYDRASYS.
Le système HYDRASYS permet de réaliser toutes les séquences jusqu'à l'obtention du gel prêt pour l'interprétation. Les protéines sont séparées en tampon alcalin (pH 9,1) puis immunoprécipitées par les antisérums des différentes spécificités : anti-chaînes lourdes gamma (Ig G), alpha (Ig A), et mu (Ig M) et anti-chaînes légères kappa et lambda (libres et liées). Après immunofixation, les protéines précipitées sont colorées par une solution de violet acide ou d'amidoschwarz. L'excès de colorant est éliminé en milieu acide.

Chaque gel d'agarose est prévu pour l'analyse de :
- 1 échantillon pour le kit HYDRAGEL 1 IF,
- 2 échantillons pour le kit HYDRAGEL 2 IF,
- 4 échantillons pour les kits HYDRAGEL 4 IF,
- 9 échantillons pour les kits HYDRAGEL 9 IF.

Les kits HYDRAGEL 4 IF sont proposés au choix avec colorant violet acide ou amidoschwarz.

À usage *in vitro* exclusivement.

PRINCIPE DU TEST

Les immunoglobulines monoclonales, marqueurs des gammapathies, sont détectées lors de l'électrophorèse des protéines. Elles se présentent sous forme de bandes anormales situées essentiellement dans les zones bêta ou gamma globulines. L'immunofixation effectuée à l'aide d'antisérums monospécifiques permet l'identification des bandes monoclonales dépistées par électrophorèse.
Elle se réalise en quatre étapes :
1. Séparation électrophorétique des protéines en gel d'agarose.
2. Fixation et immunoprécipitation des protéines séparées par électrophorèse : application du fixateur et des antisérums sur le gel, au niveau des pistes de migration. Le fixateur et les antisérums diffusent dans le gel. Le fixateur précipite toutes les protéines et les anticorps précipitent les antigènes correspondants.
3. Élimination des protéines non précipitées par pompage et lavage. Les protéines précipitées restent piégées dans le gel.
4. Coloration des protéines et comparaison de la position des bandes immunoprécipitées avec celle des bandes anormales observées après électrophorèse des protéines.

Pour identifier de façon précise la nature de la bande monoclonale, l'échantillon est testé sur six pistes. Après électrophorèse, une piste (ELP) sert de référence grâce à la précipitation de toutes les protéines présentes ; les cinq autres pistes permettent de caractériser la ou les bandes monoclonales grâce à des anticorps spécifiques anti-chaînes lourdes gamma (Ig G), alpha (Ig A) et mu (Ig M) et anti-chaînes légères kappa et lambda (libres et liées). Cette technique simple et rapide donne une image claire et très facilement interprétable.

RÉACTIFS FOURNIS DANS LES KITS HYDRAGEL 1 IF, HYDRAGEL 2 IF, HYDRAGEL 4 IF ET HYDRAGEL 9 IF

KIT HYDRAGEL 1 IF **KIT HYDRAGEL 2 IF** **KITS HYDRAGEL 4 IF** **KITS HYDRAGEL 9 IF**	**RÉF. N° 4801** **RÉF. N° 4802**	**RÉF. N° 4804** **RÉF. N° 4809**	**RÉF. N° 4808**	**RÉF. N° 4881*** **RÉF. N° 4882****
Gels d'agarose (prêts à l'emploi)	10 gels	10 gels	10 gels	80 gels
Mèches tamponnées (prêtes à l'emploi)	10 sachets de 2	10 sachets de 2	10 sachets de 2	80 sachets de 2
Diluant colorant (solution concentrée)			1 fl. de 60 ml	
Colorant amidoschwarz (solution concentrée)			1 fl. de 20 ml	
Colorant violet acide (solution concentrée)	1 fl. de 75 ml	1 fl. de 75 ml		8 fl. de 75 ml
Diluant (prêt à l'emploi)	1 fl. de 3,2 ml	1 fl. de 32 ml	1 fl. de 32 ml	2 fl. de 80 ml 3 fl. de 80 ml
Fixateur (prêt à l'emploi)				1 fl. de 14,4 ml
Immunoglobulines totales de mammifère anti-chaînes lourdes gamma (prêtes à l'emploi)				1 fl. de 8,0 ml 1 fl. de 10,8 ml
Immunoglobulines totales de mammifère anti-chaînes lourdes alpha (prêtes à l'emploi)				1 fl. de 8,0 ml 1 fl. de 10,8 ml
Immunoglobulines totales de mammifère anti-chaînes lourdes mu (prêtes à l'emploi)				1 fl. de 8,0 ml 1 fl. de 10,8 ml
Immunoglobulines totales de mammifère anti-chaînes légères kappa (libres et liées) (prêtes à l'emploi)				1 fl. de 8,0 ml 1 fl. de 10,8 ml
Immunoglobulines totales de mammifère anti-chaînes légères lambda (libres et liées) (prêtes à l'emploi)				1 fl. de 8,0 ml 1 fl. de 10,8 ml
Applicateurs (prêts à l'emploi)	1 boîte de 10	2 boîtes de 10 3 boîtes de 10	2 boîtes de 10	16 boîtes de 10 24 boîtes de 10
Papiers-filtres fins	1 sachet de 10	1 sachet de 10	1 sachet de 10	8 sachets de 10
Peignes de papier-filtre	1 sachet de 10	2 sachets de 10 3 sachets de 10	2 sachets de 10	16 sachets de 10 24 sachets de 10
Papiers-filtres épais	1 sachet de 10	1 sachet de 10	1 sachet de 10	8 sachets de 10

** HYDRAGEL 4 IF MAXI-KIT   ** HYDRAGEL 9 IF MAXI-KIT*

NOTE : Le fixateur et les antisérums sont commercialisés séparément sauf pour les MAXI-KITS (voir RÉACTIFS NÉCESSAIRES NON FOURNIS). Durant le transport, le MAXI-KIT peut rester à température ambiante (entre 15 et 30 °C) pendant 15 jours sans que cela n'affecte la qualité du test.

POUR DES RÉSULTATS OPTIMUMS :
Les éléments d'un même kit doivent être utilisés ensemble et selon les instructions de la notice.
LIRE ATTENTIVEMENT LA NOTICE D'UTILISATION.

1. GELS D'AGAROSE

Préparation

Les gels d'agarose sont prêts à l'emploi. Chaque gel contient : agarose, 8 g/l ; tampon tris-barbital, pH 9,1 ± 0,1 ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.

ATTENTION : Les gels contiennent 0,31 % de barbital et 0,34 % de barbital sodé. Ne pas avaler ! En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin !

Utilisation

Support pour l'électrophorèse et l'immunofixation des protéines.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Les gels peuvent être conservés à température ambiante (de 15 à 30 °C) ou au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Ils sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur le sachet du gel. Les gels doivent être conservés horizontalement dans leur sachet de protection (la flèche sur le devant du kit doit être pointée vers le haut). Ne pas stocker les gels à proximité d'une fenêtre ou d'une source de chaleur. Éviter toute variation brutale de température.

NE PAS CONGELER.

Éliminer le gel dans les cas suivants :

(I) Apparition de cristaux, de précipité en surface du gel ou texture du gel très molle (indiquant que le gel a gelé) ;

(II) Apparition de bactéries ou de moisissures ;

(III) Présence anormale de liquide dans la boîte du gel (indiquant une exsudation du gel liée à de mauvaises conditions de conservation).

2. MÈCHES TAMPONNÉES

Préparation

Les mèches en éponge tamponnées sont prêtes à l'emploi. Chaque mèche tamponnée contient : tampon tris-barbital, pH 9,1 ± 0,3 ; azoture de sodium ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.

ATTENTION : Les mèches tamponnées contiennent 0,92 % de barbital, 1,03 % de barbital sodé et 0,30 % d'azoture de sodium. Ne pas avaler ! En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin ! L'azoture de sodium peut former des complexes explosifs ou toxiques en cas de contact avec des acides, du plomb ou du cuivre. Au moment de l'élimination des mèches, éviter tout contact avec ces produits.

Utilisation

Les mèches en éponge tamponnées jouent un rôle de réservoir de tampon pour l'électrophorèse et assurent le contact entre le gel et les électrodes.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Les mèches tamponnées peuvent être conservées à température ambiante ou au réfrigérateur.

Elles doivent être conservées horizontalement dans leur sachet de protection (la flèche sur le devant du kit doit être pointée vers le haut).

Elles sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur le sachet des mèches tamponnées. NE PAS CONGELER.

Éliminer les mèches tamponnées si le sachet est ouvert ou si les mèches sont sèches.

3. DILUANT COLORANT (Réf. N° 4808)

Préparation

Le diluant colorant concentré doit être utilisé comme décrit dans le paragrahe " COLORANT AMIDOSCHWARZ ". Il contient une solution acide.

Utilisation

Pour la préparation du colorant amidoschwarz.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Le diluant colorant concentré peut être conservé à température ambiante ou au réfrigérateur. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de diluant. NE PAS CONGELER.

Ne pas ajouter d'azoture de sodium.

4. COLORANT AMIDOSCHWARZ (Réf. N° 4808)

Préparation

Le colorant amidoschwarz concentré est une solution visqueuse qui peut éventuellement gélifier, ce qui n'affecte absolument pas la qualité de la solution finale et son pouvoir de coloration.

Dans tous les cas, pour obtenir une parfaite reconstitution du colorant, il faut respecter le protocole suivant :

1. Ajouter environ 15 ml de diluant colorant au flacon d'amidoschwarz concentré.
2. Refermer soigneusement le flacon.
3. Agiter très vigoureusement le flacon pendant au minimum 5 secondes.
4. Verser la solution obtenue dans le récipient de préparation de la solution de coloration.
5. Renouveler cette opération deux fois, trois fois, si nécessaire.
6. Verser le reste du diluant dans le récipient de préparation de la solution de coloration.
7. Compléter à 300 ml avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
8. Agiter parfaitement cette solution pendant 5 à 10 minutes.

Le colorant est prêt à l'emploi.

NOTE : Une reprise incomplète du colorant peut entraîner une mauvaise coloration de la fraction albumine (baisse du pourcentage ou trou blanc dans la fraction).

Après dilution, la solution colorante contient : solution acide pH ≈ 2 ; amidoschwarz, 4 g/l ; éthylène-glycol, 6,7 % ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.

ATTENTION : Nocif en cas d'ingestion.

Utilisation

Pour la coloration des gels après séparation électrophorétique des protéines.

IMPORTANT : Le colorant est uniquement destiné à la coloration de 10 gels. Renouveler le colorant après 10 utilisations.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Les solutions de colorant concentrée et diluée peuvent être conservées à température ambiante ou au réfrigérateur en flacons fermés pour éviter l'évaporation. La solution concentrée est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de colorant.

La solution diluée est stable pendant 1 mois. La période de stabilité peut être prolongée à 3 mois si la solution diluée est conservée au réfrigérateur. Il est impératif de replacer le flacon fermé au réfrigérateur, immédiatement après chaque utilisation.

Ne pas stocker la solution de colorant diluée à proximité d'une source de chaleur.

5. COLORANT VIOLET ACIDE (Réf. N° 4801, 4802, 4804, 4809, 4881 et 4882)

Préparation

Le flacon de violet acide concentré doit être complété à 300 ml avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
Après dilution, la solution colorante contient : solution acide pH ≈ 2 ; violet acide, 2 g/l ; éthylène-glycol, 3,25 % ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.

ATTENTION : Nocif en cas d'ingestion.

Utilisation

Pour la coloration des gels après séparation électrophorétique et immunofixation des protéines.

IMPORTANT : Le colorant est uniquement destiné à la coloration de 10 gels. Renouveler le colorant après 10 utilisations.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Les solutions de colorant concentrée et diluée peuvent être conservées à température ambiante ou au réfrigérateur en flacons fermés pour éviter l'évaporation. La solution concentrée est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de colorant. La solution diluée est stable pendant 6 mois.

6. DILUANT

Préparation

Le diluant est prêt à l'emploi. Il contient : tampon alcalin pH 7,5 ± 0,3 ; bleu de bromophénol ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des perfomances optimales.

Utilisation

Pour la dilution des échantillons. Le bleu de bromophénol permet de vérifier la bonne application des échantillons et la qualité de la migration.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Le diluant peut être conservé à température ambiante ou au réfrigérateur. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de diluant.
Il ne doit pas y avoir de précipité.

7. FIXATEUR (Réf. 4881 et 4882)

Préparation

Le fixateur est prêt à l'emploi. Il contient : une solution acide et des composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.
Il a une couleur spécifique pour éviter toute erreur lors de l'utilisation. La couleur est rappelée sur l'étiquette du flacon.

Utilisation

Pour la fixation des protéines séparées par électrophorèse sur la piste référence (ELP).

NOTE : Le fixateur est spécifique à la technique d'immunofixation réalisée avec les masques 1, 2, 4 et 9 IF.

IMPORTANT : Pour éviter toute contamination entre les différents réactifs, il est impératif de remettre chaque bouchon sur le flacon correspondant après toute utilisation.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Le fixateur peut être conservé à température ambiante ou au réfrigérateur. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de fixateur.
Il ne doit pas y avoir de précipité.

8. ANTISÉRUMS (Réf. 4881 et 4882)

Préparation

Les antisérums sont prêts à l'emploi. Ils contiennent des immunoglobulines totales de mammifère anti-humaines. Chaque réactif a une couleur spécifique pour éviter toute erreur lors de l'utilisation. La couleur est rappelée sur les étiquettes des flacons.
Lorsque les antisérums présentent un léger trouble ou précipité, il suffit généralement de mettre les flacons à température ambiante environ 10 minutes avant leur utilisation. Si le trouble persiste, il ne perturbe en rien la réaction immunologique. Dans le cas de précipité insoluble, il est recommandé de centrifuger les antisérums pendant 5 minutes à 3000 rpm.

Utilisation

Pour l'immunoprécipitation des protéines séparées par électrophorèse.

NOTE : Les antisérums sont spécifiques à la technique d'immunofixation réalisée avec les masques 1, 2, 4 et 9 IF.

Les antisérums peuvent être d'origines animales différentes. Il est donc impératif de ne pas mélanger deux flacons différents d'antisérums, y compris de la même spécificité, et de TOUJOURS changer l'embout de la pipette lors d'un changement de flacon.

IMPORTANT : Pour éviter toute contamination entre les différents réactifs, il est impératif de remettre chaque bouchon sur le flacon correspondant après toute utilisation.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Les antisérums doivent être conservés au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Ils sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur les étiquettes des flacons d'antisérum.

NOTE : Durant le transport, les antisérums peuvent rester à température ambiante (entre 15 et 30 °C) pendant 15 jours sans que cela n'affecte la qualité du test.

9. APPLICATEURS

Utilisation

Applicateurs prédécoupés, à usage unique pour le dépôt des échantillons.

Conservation

Les applicateurs doivent être conservés dans un endroit sec à température ambiante ou au réfrigérateur.

10. PAPIERS-FILTRES FINS

Utilisation

Feuilles de papier-filtre, à usage unique pour l'absorption de l'excès de liquide à la surface du gel avant l'application des échantillons.

Conservation

Les papiers-filtres fins doivent être conservés dans un endroit sec à température ambiante ou au réfrigérateur.

11. PEIGNES PAPIER-FILTRE

Utilisation

Feuilles de papier-filtre prédécoupées, à usage unique pour l'absorption de l'excès de réactifs à la surface du gel après l'étape d'immunofixation.

12. PAPIERS-FILTRES ÉPAIS

Utilisation

Feuilles de papier-filtre, à usage unique pour l'absorption des protéines non précipitées du gel après l'étape d'immunofixation.

Conservation

Les papiers-filtres épais doivent être conservés dans un endroit sec à température ambiante ou au réfrigérateur.

RÉACTIFS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

1. COFFRET D'ANTISÉRUMS ET DE FIXATEUR IF (pour les kits 4801, 4802, 4804, 4808 et 4809)

Le coffret Antisérums et Fixateur pour immunofixation IF, Masque standard (SEBIA, référence N° 4815) contient cinq flacons d'antisérums, anti-Ig G, anti-Ig A, anti-Ig M, anti-Kappa (chaînes légères libres et liées) et anti-Lambda (chaînes légères libres et liées) de 1 ml chacun et un flacon de fixateur de 2,5 ml, **spécifiques à la technique d'immunofixation réalisée avec les masques 1, 2, 4 et 9 IF, SEBIA.**

1.1 ANTISÉRUMS

Voir paragraphe 8 précédent.

1.2 FIXATEUR

Voir paragraphe 7 précédent.

2. DÉCOLORANT

Préparation

Chaque flacon de décolorant concentré (SEBIA, référence N° 4540 : 10 flacons de 100 ml chacun) doit être dilué au 1/1000 avec de l'eau distillée ou déminéralisée, il permet d'obtenir 100 litres de solution décolorante.
Prélever par quantité de 5 ml et compléter à 5 litres avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
Après dilution, la solution décolorante contient : acide citrique, 0,5 g/l.

Utilisation

Pour la décoloration, c'est-à-dire l'élimination de l'excès de colorant après coloration du gel.
Pour le rinçage de la cuve de coloration après lavage.
Pour neutraliser l'acidité du décolorant, mettre dans le flacon de vidange vide, 15 ml de soude à 50 % (solution du commerce).

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Le décolorant concentré peut être conservé à température ambiante ou au réfrigérateur. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de décolorant.
Le décolorant dilué est stable pendant 1 semaine à température ambiante, en flacon fermé.
Éliminer le décolorant dilué s'il y a un changement d'aspect ou apparition d'un trouble dû à une contamination microbienne.
Ne pas ajouter d'azoture de sodium.
En cas de conservation prolongée (au delà d'une semaine) de la solution diluée, ajouter 50 µl/l de ProClin 300 pour prévenir toute prolifération microbienne.
Le décolorant dilué contenant du ProClin est stable en flacon fermé à température ambiante ou au réfrigérateur jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de décolorant.

3. SOLUTION DE LAVAGE HYDRASYS

Préparation

Chaque flacon de solution de lavage HYDRASYS concentrée (SEBIA, référence N° 4541 : 10 flacons de 80 ml chacun) doit être complété à 5 litres avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
Après dilution, la solution de lavage contient : tampon alcalin, pH 8,8 ± 0,3 ; azoture de sodium.

ATTENTION : La solution de lavage concentrée contient 0,625 % d'azoture de sodium. Ne pas avaler ! En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin ! L'azoture de sodium peut former des complexes explosifs ou toxiques en cas de contact avec des acides, du plomb ou du cuivre. Au moment de l'élimination des solutions, laver abondamment avec une grande quantité d'eau.

Utilisation

Pour le lavage du gel après immunofixation afin d'éliminer les protéines résiduelles non précipitées.
Pour le lavage périodique de la cuve de coloration de l'HYDRASYS : par exemple, pour une utilisation journalière, effectuer un lavage hebdomadaire de la cuve de coloration.

Voir la notice de la solution de lavage pour les instructions d'utilisation.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Les solutions de lavage concentrée et diluée peuvent être conservées à température ambiante ou au réfrigérateur en flacons fermés. Elles sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de solution de lavage.
Éliminer la solution de lavage diluée s'il y a un changement d'aspect ou apparition d'un trouble dû à une contamination microbienne.

4. FLUIDIL

Préparation

Le Fluidil (SEBIA, référence N° 4587 : 1 flacon de 5 ml) est prêt à l'emploi.

Utilisation

Pour la dilution des échantillons visqueux ou troubles (turbidité induite par la présence d'une cryoglobuline ou d'un cryogel).

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Le Fluidil peut être conservé à température ambiante. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du flacon de Fluidil.
Il ne doit pas y avoir de précipité.

ÉQUIPEMENT ET ACCESSOIRES NÉCESSAIRES

1. Système HYDRASYS SEBIA, référence N° 1200, N° 1201, N° 1202, N° 1203, N° 1210 ou N° 1211.
2. Micropipetteur, manuel ou automatique, tel que HYDRAPLUS SEBIA, référence N° 1216 ou HYDRAPLUS 2 SEBIA, référence N° 1217, pour le chargement des applicateurs.
3. Chambre humide, référence N° 1270, fournie avec le système HYDRASYS.

4. Bidons plastiques fournis avec le système HYDRASYS.
5. Barre métallique du masque SEBIA, fournie avec le système HYDRASYS.
6. Kit accessoires HYDRASYS IF SEBIA, référence N° 1260.
7. Kit accessoires HYDRASYS 1 IF / 1 BENCE JONES, SEBIA, référence N° 1267.
8. Kit accessoires HYDRASYS 9 IF, SEBIA, référence N° 1265.
9. Pipettes de 10 µl, 20 µl, 100 µl et 200 µl.

ÉCHANTILLONS À ANALYSER

Prélèvement et conservation des échantillons

L'analyse se fait sur échantillons frais. Les sérums ou les urines doivent être prélevés selon la procédure utilisée pour tout test de laboratoire d'analyses cliniques.
Les échantillons peuvent être conservés une semaine au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Pour des conservations prolongées, congeler les échantillons ; les échantillons congelés sont stables au minimum 1 mois.
La conservation des sérums congelés est améliorée par addition à l'échantillon d'azoture de sodium 0,2 g/l.
La conservation des urines congelées est améliorée par addition à l'échantillon de tampon HEPES 0,1 M (pH 6,75) et d'azoture de sodium 0,2 g/l.

IMPORTANT : Ne pas utiliser de conservateur contenant de l'acide borique.

Les échantillons décongelés peuvent donner, au point de dépôt, une trace due à la dénaturation de protéines ou de lipoprotéines.

Préparation des échantillons

1. _Sérums_

Afin d'éviter des phénomènes de zone, par excès d'antigène, les échantillons de sérum doivent être déposés dilués.
Diluer 1 échantillon pour HYDRAGEL 1 IF, 2 ou 4 échantillons pour l'HYDRAGEL IF 2/4 selon le kit et 9 échantillons pour HYDRAGEL 9 IF.

PISTE	SERUM (µl)	DILUANT (µl)
Piste immunologique G	20	100
Profil électrophorétique ELP et autres pistes immunologiques	30	60

Cas particuliers

- Si le taux d'immunoglobulines est supérieur à 20 g/l (cas d'hypergammaglobulinémie), il est recommandé d'augmenter le facteur de dilution des échantillons (sauf pour la piste ELP) afin d'obtenir une concentration normale en immunoglobulines.
- Si le taux d'immunoglobulines est inférieur à 5 g/l (cas d'hypogammaglobulinémie), il est recommandé de diminuer le facteur de dilution des échantillons.
- Pour une recherche de chaînes légères libres sériques ou urinaires, il est recommandé d'utiliser le programme " BENCE JONES ".
  Pour cela, le test pourra être réalisé avec le kit IF et avec les antisérums ANTI-KAPPA LIBRE (SEBIA, référence N° 4610) et ANTI-LAMBDA LIBRE (SEBIA, référence N° 4611) ou avec le kit HYDRAGEL 1, 2 ou 4 BENCE JONES (SEBIA, références N° 4821, 4822 ou 4824).
  En cas de recherche de chaînes libres sériques, diluer le sérum dans de l'eau physiologique ou dans le diluant pour immunofixation prédilué au 1/4 (1 volume de diluant + 3 volumes d'eau distillée ou déminéralisée) au 1/10 pour les pistes ELP, GAM, K et L (1 volume de sérum + 9 volumes de diluant prédilué ou d'eau physiologique) et au 1/3 (1 volume de sérum + 2 volumes de diluant prédilué ou d'eau physiologique) pour les pistes révélées avec les antisérums anti-kappa libres et anti-lambda libres.
  Si le taux d'immunoglobulines est inférieur à 5 g/l, il est recommandé de moins diluer le sérum ; par exemple, au 1/5 pour les pistes ELP, GAM, K et L et au 1/2 pour les pistes Kl et Ll.
- Après conservation au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C) ou congélation, certains sérums (en particulier ceux qui contiennent une cryoglobuline ou un cryogel) deviennent visqueux ou troubles. Ces sérums présentent des difficultés de manipulation lors du dépôt avec l'applicateur HYDRASYS, car ils ne diffusent que très difficilement sur les dents de l'applicateur. Prétraiter ces sérums avec le Fluidil : ajouter 25 µl de Fluidil à 75 µl de sérum, agiter 15 secondes au vortex, puis suivre la technique.
- Certaines paraprotéines sont polymérisées, le sérum présente alors une bande d'allure "monoclonale" sur toutes les pistes. Préparer une solution réductrice en ajoutant 1 % de ß-mercaptoéthanol (BME) dans le Fluidil. Prétraiter ces sérums par cette solution : ajouter 25 µl de solution réductrice à 75 µl de sérum pur, agiter au vortex et laisser en contact 15 minutes minimum (30 minutes maximum), puis suivre la technique.
- Pour l'analyse des Ig D et/ou des Ig E, appliquer les mêmes dilutions que pour les chaînes légères libres et liées.

2. _Urines concentrées_

La plupart des échantillons d'urines doivent être concentrés, au moyen d'un dispositif approprié, pour ramener la concentration protéique totale à environ 5 g/l ou la concentration en immunoglobines totales à environ 1 g/l. Si la concentration protéique urinaire n'est pas connue, concentrer l'urine 20 à 100 fois au moyen d'un dispositif approprié. (La limite de détection de la technique IF standard pour une protéine monoclonale est de 150 à 500 mg/l).

IMPORTANT : Certaines urines contiennent une concentration importante de sels. Il s'ensuit une déformation du gel au cours de la migration qui risque de conduire à une perturbation des profils après électrophorèse. Il convient d'éliminer cet excès de sels par une dialyse.
En cas d'urines troubles (concentrées ou non), il est recommandé d'éliminer les particules en centrifugeant les échantillons (pendant 10 minutes à 3000 rpm) ou par filtration (sur filtre de 0,45 µm) afin d'obtenir une bonne diffusion sur les applicateurs.

La sensibilité peut-être améliorée en augmentant le temps de dépôt de l'échantillon et le temps d'incubation de l'antisérum (programme de migration "BENCE JONES"). La limite de détection pour une protéine monoclonale est alors de l'ordre de 10 à 50 mg/l. Dans cette technique, les urines peuvent être analysées non concentrées ou concentrées pour une meilleure sensibilité.

NOTE : Une concentration trop importante de l'échantillon peut entraîner des artéfacts tels que l'apparition de fausses bandes d'allure "monoclonale". Il est donc important de ne pas concentrer les urines au-delà des recommandations préconisées.

Cas particulier

Certaines chaînes légères tendent à se polymériser et à former des agrégats, l'urine présente alors une bande d'allure " monoclonale " sur toutes les pistes. Traiter les échantillons comme suit : mélanger 100 µl d'urine et 5 µl de ß-mercaptoéthanol préalablement dilué au 1/10 dans de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau physiologique, agiter au vortex et laisser en contact 10 à 15 minutes, puis suivre la technique.

Échantillon à éviter

- Ne pas utiliser de plasma. Le fibrinogène donne une bande proche du point de dépôt. Cette bande peut fausser l'interprétation du test (confusion avec une gammapathie).
- Ne pas utiliser d'échantillon hémolysé.
- Ne pas utiliser les échantillons d'urine anciens ou conservés dans de mauvaises conditions, des dégradations enzymatiques peuvent les altérer.

TECHNIQUE

Le système HYDRASYS est un instrument multiparamétrique semi-automatique qui assure le traitement des HYDRAGEL selon les étapes suivantes : application des échantillons, migration électrophorétique, incubation avec les réactifs, séchage, lavage, coloration, décoloration et séchage final.
Les étapes manuelles sont les suivantes : préparation des échantillons et des gels, dépôt des réactifs et lancement des séquences automatiques.
LIRE ATTENTIVEMENT LE MANUEL D'INSTRUCTIONS D'HYDRASYS / HYDRASYS 2.

I. PRÉPARATION DE LA MIGRATION

1. Mettre HYDRASYS sous tension.
2. Poser un applicateur pour HYDRAGEL 1 IF ou HYDRAGEL IF 2/4 (2 échantillons), deux applicateurs pour HYDRAGEL IF 2/4 (4 échantillons) ou 3 applicateurs pour HYDRAGEL 9 IF, à plat sur la paillasse, numérotations (puits) vers le haut (Fig. 1).
   - Déposer 10 µl d'échantillon, sérum dilué ou urine concentrée, dans chaque puits. Le chargement de chaque applicateur ne doit pas excéder 2 minutes.

	PISTES					
PUITS DE DÉPÔT :	**ELP**	**G**	**A**	**M**	**K**	**L**
HYDRAGEL 1 IF	1	2	3	4	5	6
HYDRAGEL IF 2/4						
ÉCHANTILLON N° 1 OU 3	2	3	4	5	6	7
ÉCHANTILLON N° 2 OU 4	9	10	11	12	13	14
HYDRAGEL 9 IF						
ÉCHANTILLON N° 1, 4 OU 7	1	2	3	4	5	6
ÉCHANTILLON N° 2, 5 OU 8	7	8	9	10	11	12
ÉCHANTILLON N° 3, 6 OU 9	13	14	15	16	17	18

   IMPORTANT : Pour l'analyse sur HYDRAGEL IF 2/4, ne pas utiliser les puits de l'applicateur numérotés 1, 8 et 15 ; il est recommandé de les identifier au préalable à l'aide d'un marqueur pour éviter d'y déposer l'échantillon par erreur.
   - Placer l'(es) applicateur(s) dans la chambre humide, dents vers le haut (en manipulant l'(es) applicateur(s) par la protection en plastique). *Voir la notice de la chambre humide pour les instructions d'utilisation.*
   - Laisser diffuser 5 minutes après le dépôt du dernier échantillon. Pour une conservation prolongée (8 heures maximum), placer la chambre humide au réfrigérateur.
3. Ouvrir le capot du module de migration et relever les chariots porte-applicateurs et porte-électrodes.
   ATTENTION : Ne pas fermer le capot de l'appareil si les chariots sont relevés !
4. Sélectionner dans le menu le programme de migration "1 IF MS/MD" pour HYDRAGEL 1 IF, "2/4 IF MS/MD" HYDRAGEL IF 2/4 ou "9 IF MS" pour HYDRAGEL 9 IF.
5. Sortir les mèches tamponnées de leur emballage en les manipulant par les languettes plastiques.
   Fixer les mèches sur le chariot porte-électrodes à l'aide des languettes perforées. La face de la mèche fixée sur la languette vient en contact avec l'électrode (Fig. 2).
6. Sortir le gel de son emballage.
   - Éliminer rapidement l'excès de liquide en surface, en effleurant le gel avec un papier-filtre fin.
   ATTENTION : Ne surtout pas laisser le papier-filtre en contact prolongé avec le gel pour éviter sa déshydratation.
   - Déposer 120 µl d'eau distillée ou déminéralisée pour HYDRAGEL 1 IF ou 200 µl pour HYDRAGEL IF 2/4 et HYDRAGEL 9 IF, sur le plateau de migration dans le tiers inférieur du cadre sérigraphié.
   - Placer le gel (face gel orientée vers le haut) sur le plateau contre la barrette, à l'intérieur du cadre sérigraphié (Fig. 3).
   - Donner une forme concave au gel (Fig. 3) et le dérouler sur le plateau jusqu'au contact de la goutte d'eau qui doit se répartir sur toute la largeur du gel. Relever légèrement le gel pour éliminer les bulles d'air éventuellement piégées puis dérouler totalement le gel au contact du plateau. La goutte d'eau doit s'étaler sous toute la surface du film.
7. Abaisser l'ensemble des chariots jusqu'en butée. Dans cette position, les mèches tamponnées ne touchent pas le gel. NE PAS FORCER LA DESCENTE DES CHARIOTS.
8. Sortir l'(es) applicateur(s) de la chambre humide en le(s) manipulant par la protection plastique.
   - Éliminer la protection des dents.
   - Placer l'(es)applicateur(s) sur le porte-applicateurs :
     - HYDRAGEL 1 IF ou HYDRAGEL IF 2/4 (2 échantillons) : position N° 6,
     - HYDRAGEL IF 2/4 (4 échantillons) : positions N° 3 et 9,
     - HYDRAGEL 9 IF : positions N° 2, 6 et 10.

   Pour une parfaite reproductibilité de la zone de dépôt, amener les applicateurs en butée sur le porte-applicateurs, par exemple du côté gauche.
   IMPORTANT : Les numérotations de l'applicateur sont toujours dirigées vers l'opérateur (Fig. 4).
9. Fermer le capot du module de migration.
10. Démarrer immédiatement la séquence en appuyant sur "START" (flèche verte à gauche du clavier).
   IMPORTANT : Ne rien placer à proximité immédiate de la grille de ventilation (à droite de l'appareil).

MIGRATION - DESCRIPTION DES SÉQUENCES AUTOMATIQUES

- Descente des chariots porte-électrodes et porte-applicateurs pour amener les mèches tamponnées et l'(es) applicateur(s) au contact du gel.
- Remontée du chariot porte-applicateurs.
- Migration à 10 W constants pour HYDRAGEL 1 IF et à 20 W constants pour HYDRAGEL IF 2/4, jusqu'à 42 Vh accumulés (pendant environ 9 minutes) et à 20 W constants jusqu'à 31 Vh accumulés (pendant environ 7 minutes) pour HYDRAGEL 9 IF, à 20 °C, température contrôlée par effet Peltier.
- Déconnexion des électrodes par remontée du chariot porte-électrodes.
- Un signal sonore (bip) retentit et la sécurité du capot du module de migration se débloque.
  A l'écran, s'affiche le message : "⇩ AS" / "⇩ ANTISÉRUMS".

  NOTE : Pendant toutes les séquences de migration, le capot du module de migration reste verrouillé.

II. IMMUNOFIXATION

1. Ouvrir le capot du module de migration.
2. Retirer l'(es) applicateur(s) et le(s) jeter.
3. Relever les chariots porte-applicateurs et porte-électrodes, retirer les mèches par les languettes et les jeter.
   - Retirer les chariots porte-applicateurs et porte-électrodes.
   - Nettoyer les électrodes avec un papier ouaté humide.
   - Laisser le gel en place dans le module de migration.
4. Mettre en place le masque de dépôt des réactifs en procédant comme suit (Fig. 5) :
   - fixer la tige destinée à l'accrochage du masque d'incubation, à l'aide des plots de fixation. (Une fois mise en place, cette tige peut être laissée sur l'HYDRASYS) ;
   - placer les encoches du masque dans les repères de la tige en tenant le masque par la poignée ;
   - faire pivoter le masque pour l'appliquer sur le gel.
   - régler la position du masque pour obtenir une parfaite correspondance entre les profils électrophorétiques du gel et les pistes de révélation du masque (voir la notice d'utilisation du kit accessoires 9 IF SEBIA, référence N° 1265).
5. Déposer les réactifs en procédant comme suit :

PISTE	VOLUME (µl)		DÉSIGNATION	COULEUR
	Masque 1, 2 et 4 IF	Masque 9 IF		
ELP	40	20	solution de fixation	jaune
G	25	15	antisérum anti-chaînes lourdes gamma	rose
A	25	15	antisérum anti-chaînes lourdes alpha	bleu foncé
M	25	15	antisérum anti-chaînes lourdes mu	jaune vert
K	25	15	antisérum anti-chaînes légères kappa (libres et liées)	vert clair
L	25	15	antisérum anti-chaînes légères lambda (libres et liées)	bleu clair

   NOTE : Pour éviter les inversions, les réactifs sont colorés et la couleur de la piste à remplir est rappelée sur le masque de dépôt des réactifs.
   - *Lors du prélèvement des réactifs, ne pas piéger de bulles d'air dans l'embout de la pipette.*
   - *Pour déposer les réactifs (Fig. 6) :*
     - *tenir la pipette verticalement et appliquer légèrement l'embout au fond de l'orifice ;*
     - *injecter très progressivement les réactifs.*
6. Fermer le capot du module de migration.
7. Démarrer immédiatement la séquence en appuyant sur "START" (flèche verte à gauche du clavier).
   À l'écran, s'affiche le message : "[INCUBATION]".

IMMUNOFIXATION - DESCRIPTION DES SÉQUENCES AUTOMATIQUES

- Incubation à 20 °C, température contrôlée par effet Peltier, pendant 5 minutes.
- Un signal sonore (bip) retentit et la sécurité du capot du module de migration se débloque.
  À l'écran, s'affiche le message : "⇧ AS (MS)" / "⇧ ANTISÉRUMS (MS)".

  NOTE : Pendant la séquence d'incubation, le capot du module de migration reste verrouillé.

III. ÉLIMINATION DES RÉACTIFS

1. Ouvrir le capot du module de migration.
2. Éliminer les réactifs à l'aide des peignes de papier-filtre (Fig. 7) : Un peigne pour les masques 1 IF et 2 IF, deux peignes pour le masque 4 IF et 3 peignes pour le masque 9 IF.
   - Présenter le(s) peigne(s) à 30° (par rapport à l'horizontale) et l'(es) introduire dans la(es) fente(s) pratiquée(s) dans la partie inférieure des pistes d'incubation, selon le plan incliné de celle(s)-ci ;
   - faire glisser très délicatement les dents du peigne de papier-filtre, le long de la paroi verticale opposée de la fente ; les dents viennent en contact avec les réactifs et les absorbent par capillarité ; si le liquide ne progresse pas, incliner davantage le peigne de papier-filtre en faisant levier sur son sommet pour amener les dents en contact avec le liquide (Fig. 8).

   IMPORTANT : Le peigne de papier-filtre doit rester incliné à environ 45° et ne doit pas pénétrer dans le gel.
3. Démarrer la séquence en appuyant sur "START" (flèche verte à gauche du clavier).

ÉLIMINATION - DESCRIPTION DES SÉQUENCES AUTOMATIQUES

- Pompage à 20 °C, température contrôlée par effet Peltier, pendant 15 secondes.
- Un signal sonore (bip) retentit.
  À l'écran, s'affiche le message : "⇩ PAP." / "⇩ PAPIER-FILTRE EPAIS".

IV. POMPAGE DU GEL

1. Retirer les peignes de papier-filtre.
2. Contrôler la bonne absorption des différents réactifs :
   - absence de réactifs sur le gel ;
   - toutes les dents du peigne sont colorées sur toute leur hauteur.
     Si l'absorption est insuffisante, introduire à nouveau le même peigne (dans le même sens) et renouveler manuellement l'opération.
3. Retirer le masque de dépôt des réactifs :
   - tenir le masque par la poignée ;
   - faire pivoter le masque autour de la tige et le décrocher.
4. Appliquer une feuille de papier-filtre épais sur le gel :
   - incliner la feuille de papier-filtre épais d'environ 45° et aligner le bord inférieur de la feuille de papier-filtre sur la barrette de positionnement du gel ;
   - faire pivoter la feuille de papier-filtre et l'appliquer sur le gel.

   ATTENTION : Bien appuyer sur toute la surface de la feuille de papier-filtre pour assurer un contact parfait entre le gel et le papier.
5. Fermer le capot du module de migration.
6. Démarrer la séquence en appuyant sur "START" (flèche verte à gauche du clavier).
7. Laver le masque sous l'eau courante avec une petite brosse souple (type brosse à dent). NE PAS UTILISER D'ALCOOL NI TOUT AUTRE SOLVANT. Pour l'utilisation suivante, le masque doit être parfaitement sec. Pour éliminer les gouttes d'eau pouvant être piégées dans les puits, tapoter le masque sur un papier ouaté et l'essuyer.

POMPAGE DU GEL - DESCRIPTION DES SÉQUENCES AUTOMATIQUES

- Pompage à 40 °C, température contrôlée par effet Peltier, pendant 3 minutes.
- Un signal sonore (bip) retentit.
  À l'écran, s'affiche le message : "⇧ PAP." / "⇧ PAPIER-FILTRE EPAIS".

V. SÉCHAGE DU GEL

1. Ouvrir le capot du module de migration.
2. Retirer le papier-filtre en laissant le film en place.
3. Fermer le capot du module de migration.
4. Démarrer la séquence en appuyant sur "START" (flèche verte à gauche du clavier).

SÉCHAGE - DESCRIPTION DES SÉQUENCES AUTOMATIQUES

- Séchage à 50 °C, température contrôlée par effet Peltier, pendant 6 minutes.
- Un signal sonore (bip) retentit et la sécurité du capot du module de migration se débloque. Le plateau reste à 50 °C jusqu'à l'ouverture du capot.

  NOTE : Pendant toute la séquence de séchage, le capot du module de migration reste verrouillé.

VI. PRÉPARATION DES SÉQUENCES DE LAVAGE, COLORATION ET DÉCOLORATION DU GEL

1. Ouvrir le capot du module de migration.
2. Récupérer le film sec pour les séquences suivantes.
3. Placer le film sur le porte-film, face gel vers l'opérateur, en procédant comme suit (Fig. 9) :
   - ouvrir le porte-film ;
   - le poser à plat sur la paillasse ;
   - positionner le gel dans les gorges des colonnettes ;
   - refermer le porte-film ;
   - s'assurer que le film soit bien enfoncé dans les gorges des deux colonnettes.
4. Introduire le porte-film dans le module de traitement / coloration du gel.
   IMPORTANT : Avant de lancer un cycle de coloration, s'assurer que :
   - le flacon de solution de lavage contienne 400 ml de solution de lavage ;
   - le flacon de colorant contienne 300 ml de colorant ;
   - le flacon de décolorant contienne 1 litre de décolorant minimum ;
   - le flacon de vidange soit vide.

   Pour le branchement des canaux réactifs : Se référer aux instructions affichées sur l'écran de l'appareil (sélectionner la touche : "VISU CANAUX" / "VISUALISATION CANAUX").
   IMPORTANT : Ne pas oublier d'obturer les canaux non utilisés.
5. Sélectionner le programme de coloration "IF ACID VIOLET" ou "IF AMIDO" dans le menu.
   - Démarrer la séquence en appuyant sur "START" (flèche verte à droite du clavier).

   Pendant toutes les séquences de coloration, décoloration et séchage, le système reste verrouillé.
   Après refroidissement de la cuve, un signal sonore (bip) retentit et le système se débloque (la ventilation se maintient jusqu'à la récupération du porte-film).

NOTES :
- *La température du plateau continue à descendre et atteint 20 °C en 5 minutes environ. À 20 °C, une nouvelle séquence de migration peut être lancée.*
- *Remettre les chariots porte-applicateurs et porte-électrodes.*
- *Nettoyer le plateau avec un papier ouaté humide.*

VII. FIN DU TRAITEMENT DU GEL

1. Sortir le porte-film du compartiment ; ouvrir le porte-film et retirer le gel sec.
2. Si nécessaire, nettoyer le dos du gel (support plastique) avec un papier ouaté humide.

   NOTE : Pour les gels à rangées multiples (2 ou 3), les longueurs de migration peuvent être sensiblement différentes, sans aucune conséquence sur les résultats.

RÉSULTATS

Interprétation

1. *Sérum*

Absence de bande monoclonale

- Un sérum normal montre une zone colorée diffuse d'immunoglobulines polyclonales sur toutes les pistes.
- Une hypergammaglobulinémie est caractérisée par une zone diffuse très fortement colorée, avec absence de bande étroite.

Présence d'une bande monoclonale

- Une gammapathie (présence d'une immunoglobuline monoclonale) est caractérisée par une bande étroite détectée avec l'un des anti-chaînes lourdes (gamma, alpha ou mu) et avec l'un des anti-chaînes légères (kappa ou lambda). La fraction monoclonale mise en évidence, généralement étroite et bien visible, doit être située au même niveau de migration que la bande détectée sur la piste de référence (ELP).
- L'absence de réaction avec l'un des anti-chaînes lourdes appliqué, mais avec présence d'une chaîne légère peut signifier :
  a) la présence d'une gammapathie à Ig D ou Ig E qu'il conviendra de confirmer avec les anti-chaînes lourdes delta ou epsilon,
  b) la présence d'une chaîne légère libre qu'il conviendra de confirmer avec les antisérums spécifiques anti-chaînes légères libres kappa ou lambda.
- L'absence de réaction avec les anti-chaînes légères mais avec présence d'une chaîne lourde, est rare. Il conviendra de confirmer la présence d'une maladie des chaînes lourdes gamma, alpha ou mu.

Présence de plusieurs bandes monoclonales

- La même interprétation s'applique en présence de plusieurs bandes monoclonales. Ces cas plus rares correspondent à la prolifération de plusieurs clones de cellules B. Une gammapathie biclonale sera détectée par la présence de deux chaînes lourdes (identiques ou différentes) et de deux chaînes légères (identiques ou différentes).
- Des immunoglobulines polymérisées sont caractérisées par la présence de plusieurs bandes sur une même chaîne lourde et une même chaîne légère. Il conviendra d'effectuer un traitement réducteur au ß-mercaptoéthanol et de renouveler l'immunofixation pour confirmer la présence d'une seule anomalie monoclonale (Voir "Échantillons à analyser").
- Un profil oligoclonal est caractérisé par la présence de bandes multiples sur une ou plusieurs chaînes lourdes et sur l'une ou les deux chaînes légères.

Cas particuliers

- Une bande d'allure monoclonale observée à l'électrophorèse mais non retrouvée sur les pistes immunoprécipitées peut indiquer la présence de fibrinogène.
- Une précipitation sur toutes les pistes, au même niveau, peut indiquer la présence d'une Ig M polymérisée ou d'une cryoglobuline qu'il conviendra d'identifier après traitement réducteur (Voir "Échantillons à analyser").
- Dans certains cas de gammapathie à Ig A, l'antisérum anti-chaîne légère peut présenter une faible affinité pour l'immunoglobuline monoclonale, ce qui rend sa détection plus difficile. Dans ce cas, il est conseillé de réaliser l'immunofixation avec le programme BENCE JONES, la réaction étant amplifiée par un temps d'incubation avec l'antisérum plus long (voir la notice d'utilisation des kits HYDRAGEL BENCE JONES pour les dilutions des sérums).
- En cas de fond polyclonal important, il est conseillé d'augmenter la dilution de l'échantillon pour les pistes antisérums, notamment pour la piste Ig G.
- HYDRAGEL 9 IF : Dans les cas de gammapathies oligoclonales, pour obtenir une meilleure résolution de la zone gamma, il est recommandé de réaliser les immunofixations en technique HYDRAGEL 1, 2 ou 4 IF où la zone allongée des gammaglobulines facilite la visualisation des bandes multiples.

2. *Urines concentrées*

Le principe d'interprétation est identique à celui décrit pour le sérum.

Une gammapathie (présence d'une immunoglobuline monoclonale) est caractérisée par une bande étroite détectée avec l'un des anti-chaînes lourdes (gamma, alpha ou mu) et avec l'un des anti-chaînes légères (kappa ou lambda). La fraction monoclonale mise en évidence, généralement étroite et bien visible, doit être située au même niveau de migration que la bande détectée sur la piste de référence (ELP).

Une protéine de Bence Jones est caractérisée par :

- une bande monoclonale révélée par un anti-chaînes légères (libres et liées) kappa ou lambda (pistes K ou L),
- l'absence de bande monoclonale avec les anti-chaînes lourdes gamma, alpha ou mu (pistes G, A ou M).

Une protéine de Bence Jones à différents états de polymérisation est caractérisée par :

- plusieurs bandes révélées par un anti-chaînes légères (libres ou liées) kappa ou lambda (pistes K ou L),
- l'absence de bande monoclonale avec les anti-chaînes lourdes gamma, alpha ou mu (pistes G, A ou M).
  Il conviendra d'effectuer un traitement réducteur au ß-mercaptoéthanol et de renouveler l'immunofixation en présence d'anti-chaînes légères libres (anti-kappa libre ou anti-lambda libre).

Une paraprotéine sérique passant dans les urines avec absence de protéine de Bence Jones est caractérisée par :

- une bande monoclonale révélée par les anti-chaînes lourdes gamma, alpha ou mu (pistes G, A ou M),
- la même bande révélée par un anti-chaînes légères (libres ou liées) kappa ou lambda (pistes K ou L).

Une paraprotéine sérique passant dans les urines associée à une protéine de Bence Jones est caractérisée par :

- une bande monoclonale révélée par un anti-chaînes lourdes gamma, alpha ou mu (pistes G, A ou M),
- deux bandes révélées avec un ou les deux anti-chaînes légères kappa et/ou lambda (libres et liées).

Interférences et limites

Voir **ÉCHANTILLONS À ANALYSER**.

La présence de fibrinogène ou de fibrine résiduelle peut entraîner une bande artéfacte sur toutes les pistes, d'intensité inégale selon les pistes, et généralement plus importante sur la piste révélée avec l'antisérum anti-Ig A.

L'utilisation d'antisérums autres que ceux spécifiques à la technique d'immunofixation réalisée avec le masque standard peut affecter la qualité des résultats.

Compte-tenu des principes analytiques des techniques actuelles (principes de l'électrophorèse de zone, résolution et sensibilité), aucune garantie ne peut être donnée quant à la détection totale de toutes les composantes monoclonales.

Assistance technique

Contacter le Service Technique SEBIA en cas de test défectueux.

Les fiches de données de sécurité des différents réactifs du kit ainsi que les informations relatives à l'élimination des déchets sont disponibles auprès du Service Technique SEBIA.

PERFORMANCES

HYDRAGEL 4 IF

Reproductibilité intra-essai
Migration de trois (3) échantillons de sérums pathologiques : un sérum à forte gammapathie (une paraprotéine), un sérum à faible gammapathie (une paraprotéine) et un sérum présentant deux paraprotéines. La migration et l'immunofixation de chaque échantillon sont réalisées sur 2 lots différents de gels HYDRAGEL IF 2/4. Le violet acide est utilisé pour la coloration.
Tous les échantillons testés donnent les mêmes résultats pour les 2 lots testés. Les profils obtenus sont typiques des échantillons testés, c'est à dire l'immunofixation détecte la bande monoclonale attendue pour les deux premiers échantillons pathologiques et deux bandes monoclonales pour le troisième échantillon.

Reproductibilité inter-essais
Migration de quatre (4) échantillons différents de sérums pathologiques sur 20 gels HYDRAGEL IF 2/4 de 2 lots différents. Le violet acide est utilisé pour la coloration.
Tous les échantillons testés donnent les mêmes résultats pour les 2 lots testés. Les profils obtenus sont typiques des échantillons testés, c'est à dire l'immunofixation détecte chaque bande monoclonale attendue pour les quatre échantillons.

Exactitude
Trente deux échantillons différents de sérums pathologiques sont testés en parallèle sur gels HYDRAGEL IF 2/4 et sur un autre système en gel d'agarose disponible dans le commerce. Le violet acide est utilisé pour la coloration des gels. Les mêmes bandes sont mises en évidence sur tous les sérums pathologiques dans les deux systèmes d'analyse.

Sensibilité
Trois sérums à gammapathie sont dilués en série. Le violet acide et l'amidoschwarz sont utilisés pour la coloration.
Les résultats sont résumés ci-dessous.

	BANDE MONOCLONALE		LIMITE DE DÉTECTION (g/l)	
ÉCHANTILLON N°	TYPE	CONC. (g/l)	HYDRAGEL 4 IF AMIDOSCHWARZ	HYDRAGEL 4 IF VIOLET ACIDE
1	alpha	5,3	0,25	0,25
1	kappa	5,3	0,25	0,25
2	mu	10,9	0,12	0,12
2	lambda	10,9	0,25	0,25
3	gamma	17,2	0,50	0,25
3	lambda	17,2	0,12	0,06

HYDRAGEL 9 IF

Reproductibilité intra-essai
Migration de trois échantillons de sérums pathologiques : un sérum à forte gammapathie, un sérum à gammapathie moyenne et un sérum à faible gammapathie. La migration et l'immunofixation de chaque échantillon sont réalisées sur 2 lots différents de gel HYDRAGEL 9 IF. Le violet acide est utilisé pour la coloration.
Tous les échantillons testés donnent les mêmes résultats pour les 2 lots testés. Les profils obtenus sont typiques des échantillons testés, c'est-à-dire l'immunofixation met en évidence la bande monoclonale attendue.

Reproductibilité inter-essai
Migration de neuf échantillons de sérums pathologiques sur 12 gels HYDRAGEL 9 IF de 3 lots différents. Le violet acide est utilisé pour la coloration.
Tous les échantillons testés donnent les mêmes résultats pour les 3 lots testés. Les profils obtenus sont typiques des échantillons testés, c'est-à-dire l'immunofixation met en évidence la bande monoclonale attendue.

Exactitude
Cinquante huit échantillons différents sont testés en parallèle sur gel HYDRAGEL 9 IF et sur un autre système en gel d'agarose disponible dans le commerce. Le violet acide est utilisé pour la coloration. Les mêmes bandes sont mises en évidence sur tous les sérums pathologiques dans les deux systèmes.

Sensibilité
Six sérums à gammapathie sont dilués en série. Les résultats sont résumés ci-dessous.

	BANDE MONOCLONALE		LIMITE DE DÉTECTION (g/l)	
ÉCHANTILLON N°	TYPE	CONC. (g/l)	HYDRAGEL 9 IF	TEST COMPARATIF
1	gamma	55,0	0,25	0,25
1	kappa	55,0	0,12	0,12
2	gamma	25,1	0,25	0,25
2	lambda	25,1	0,06	0,06
3	alpha	15,4	0,25	0,25
3	kappa	15,4	0,25	0,25
4	alpha	15,1	0,12	0,12
4	lambda	15,1	0,12	0,12
5	mu	9,0	0,12	0,12
5	kappa	9,0	0,25	0,25
6	mu	9,1	0,12	0,12
6	lambda	9,1	0,25	0,25

BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

Pour des informations complémentaires sur l'interprétation des profils obtenus par immunofixation, voir :
For additional information on interpretation of immunofixation patterns refer to:

1. Le Carrer Didier, "Électrophorèse des Protéines et Immunofixation : Guide d'interprétation", Laboratoires SEBIA, 1994, Hatier - Paris.
2. Keren D. F., "High Resolution Electrophoresis and Immunofixation Techniques and Interpretation", Butterworth-Heinemann, Woburn, Ma, USA, 2nd ed., 1994, 397 pp.

SCHÉMAS / FIGURES


Figure 1

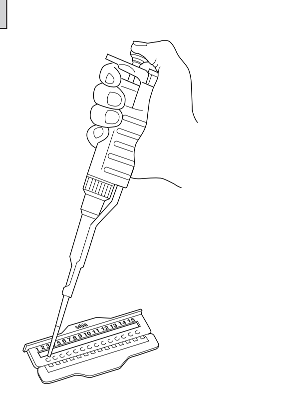


Figure 2

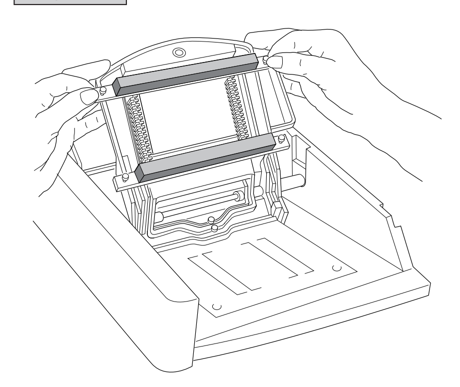


Figure 3

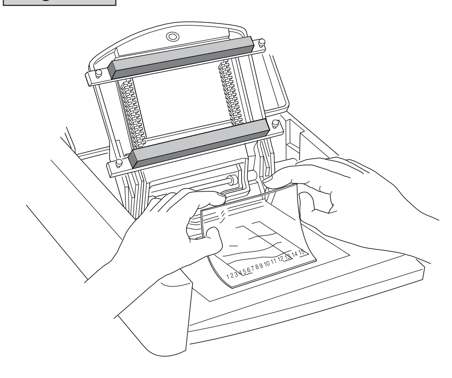


Figure 4

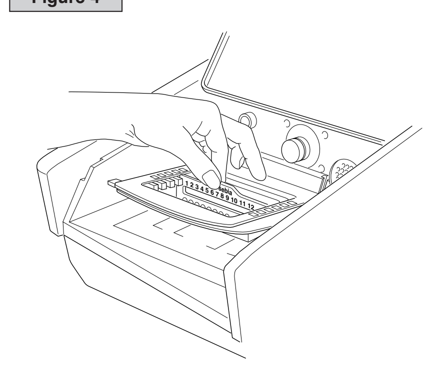


Figure 5

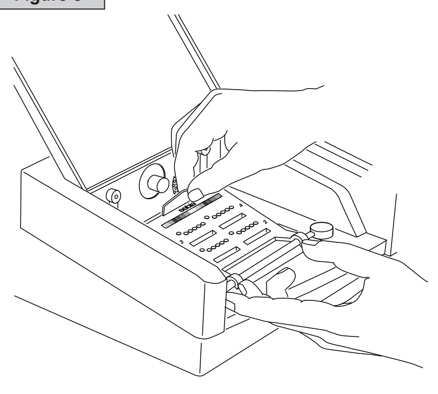
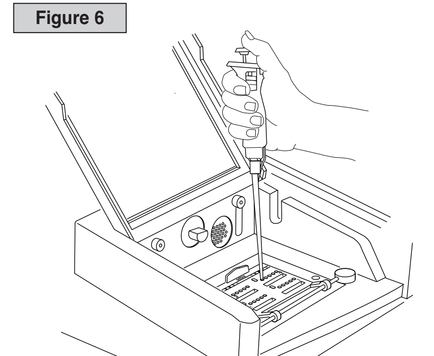


Figure 6



SCHÉMAS / FIGURES

Figure 7

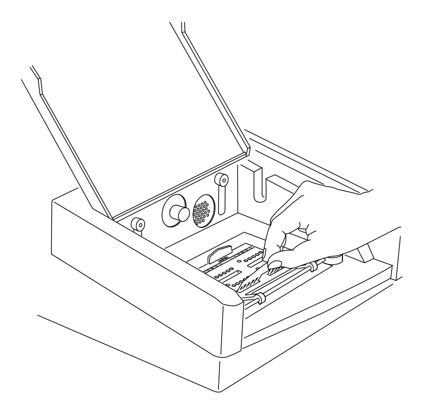


Figure 8

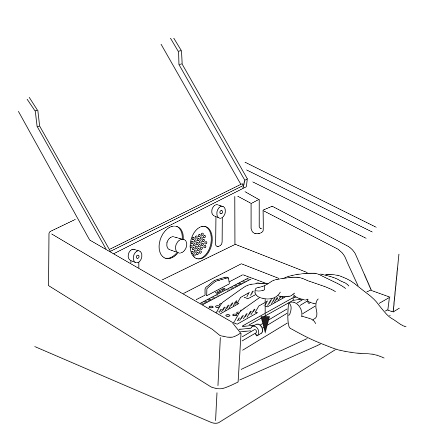


Figure 9

